

Studies on Expression and Function of I κ B- in B Cells

著者	埴原 文人
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	生博第259号
URL	http://hdl.handle.net/10097/56681

	はにはら ふみと
氏 名	埴原 文人
学 位 の 種 類	博士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生博第259号
学位授与年月日	平成25年4月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 , 専 攻	東北大学大学院生命科学研究科 (博士課程) 生命機能科学専攻
論 文 題 目	Studies on Expression and Function of IκB-ζ in B Cells (B細胞における IκB-ζの発現と機能に関する研究)
博士論文審査委員	(主査) 教 授 牟田 達史 教 授 十川 和博 准教授 大橋 一正

論文内容の要旨

● 序論

B細胞はB細胞抗原受容体(B cell antigen receptor、BCR)を介して抗原を認識し、抗体やサイトカインの産生を介して宿主免疫に寄与する。またB細胞は、BCRに加え、Toll-like receptors (TLRs)と呼ばれるパターン認識受容体や、ヘルパーT細胞に対する受容体であるCD40、IgG抗体のFc領域を認識しBCRのシグナルを抑制する受容体(Fc γ receptor, Fc γ RIIB)を介して、その活性が厳密に制御されている。近年、B細胞は、BCRに加えて、病原体の侵入をTLRによって認識することが明らかとなり、B細胞活性化における両者の役割が注目を集めている。しかし、両受容体が共に刺激された際のB細胞の活性化やその制御機構は未だ不明な点が多い。

本研究室で解析を進めている転写制御因子 I κ B- ζ は、TLR4のリガンドであるリポ多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激に伴い、強力に発現が誘導される遺伝子として本研究室の牟田らにより同定された。これまでの解析から I κ B- ζ はマクロファージにおける interleukin (IL)-6、12産生、natural killer細胞における interferon- γ 産生、そしてT細胞における Th17細胞分化など免疫系の様々な細胞において必須の役割を担っていることが明らかとなっている。しかし、B細胞においては発現が誘導されるという報告がなされているものの、その発現機構や機能は未だ不明である。

本研究では、B細胞における I κ B- ζ の発現誘導機構を解析するとともに、誘導された I κ B- ζ のB細胞活性化機構における機能について、I κ B- ζ 欠損マウスを用いて解析した。

● 結果

まず、私はB細胞における I κ B- ζ の発現誘導機構について検討した。マウスB細胞株A20細胞やマウスより精製したB細胞にTLRリガンドやBCRに対する抗体刺激を行ない、B細胞において I κ B- ζ が、BCR刺激及びTLR刺激に伴い発現誘導されることを確認した。また、B細胞のFc γ RIIBの I κ B- ζ の発現への関与を検討した結果、Fc γ RIIBはBCR刺激に伴う I κ B- ζ の発現をほぼ完全に抑制する一方、TLR刺激に伴う I κ B- ζ の発現は抑制しなかった。

続いて、B細胞において I κ B- ζ の発現がどのような機構で制御されているか解析した。その結果、マクロファージのTLR刺激による誘導と同じく、BCR刺激に伴う I κ B- ζ の発現には転写因子 nuclear factor- κ Bによる転写の活性化と I κ B- ζ mRNAの3'-非翻訳領域内のシスエレメントに依存した転写後制御という二段階制御を受けていることが明らかになった。特に、転写後制御は、定常状態では I κ B- ζ mRNAを分解し発現を抑制する一方、BCRやTLR刺激に伴い安定化させることにより発現を制御していることが示された。さらに、Fc γ RIIBはBCR刺激に伴うこの二段階制御を共に抑えることにより、I κ B- ζ の発現を厳密に制御していることが判明した。

次に、B細胞が病原体を認識した際にBCRとTLRに共に刺激が入ることを考慮し、BCRとTLR同時刺激の際の I κ B- ζ の発現を検討した。その結果、核酸を認識するTLR9とBCRの共刺激に伴い、

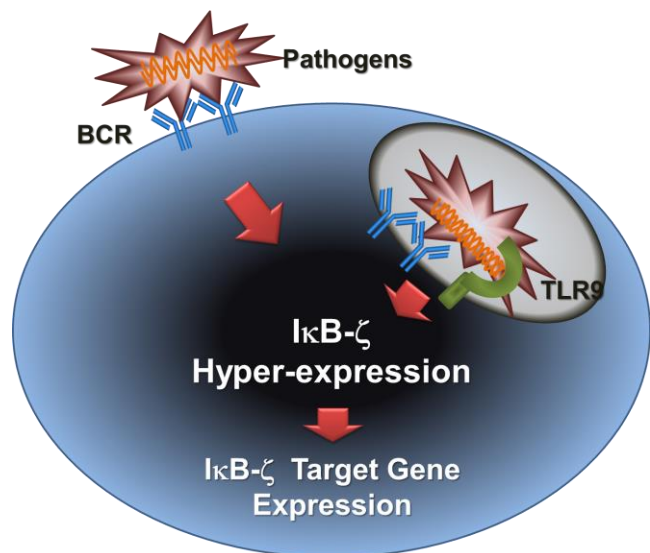
相乗的に I κ B- ζ の発現が誘導されることを見出した。興味深いことに、この相乗効果は TLR2 と BCR の共刺激では観察されず、受容体特異性があることが分かった。さらに、BCR のシグナルを抑制する Fc γ RIIB は TLR9 と BCR の相乗効果を抑制しなかった。

最後に、誘導された I κ B- ζ の B 細胞における機能を解析した。野生型マウスと I κ B- ζ 欠損マウスから B 細胞を精製し、BCR もしくは TLR9 刺激後の RNA を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、I κ B- ζ は抗炎症性サイトカイン IL-10 や抑制性の共刺激分子 Cytotoxic T-lymphocyte antigen (CTLA)-4 をはじめ、BCR や TLR で誘導される様々な遺伝子の発現誘導に必須の役割を担っていることが明らかとなった。

● 考察

異なる細胞内情報伝達経路を有する BCR と TLR が、どちらも転写制御と転写後制御を介して I κ B- ζ の発現を誘導し、BCR と TLR9 の共刺激により相乗的に I κ B- ζ が誘導される。この観察結果から、I κ B- ζ の発現を制御する共通の機構の存在が示唆される。また、BCR と TLR9 に同時に刺激が入るウイルス感染などの場合は、強力に I κ B- ζ を誘導し、感染防御に寄与しているのではないかと推測される。

自己免疫疾患の患者では、核酸と自己抗体が複合体を形成し、この複合体が BCR、Fc γ RIIB、そして TLR を共架橋することが報告されている。今回得られた結果より、核酸と自己抗体が複合体を形成した場合は B 細胞の活性化を抑制する抑制性受容体である Fc γ RIIB は機能せず、B 細胞の過剰な活性化が誘導されることが示唆された。一方で、TLR と BCR の共刺激の際は、I κ B- ζ 依存的に抗炎症性の IL-10 や CTLA-4 が誘導されることも明らかとなり、核酸と自己抗体の複合体は単に病態の悪化を引き起こすだけでなく抗炎症機能を含んでいる可能性がある。今後、BCR と TLR 刺激で誘導される I κ B- ζ の機能解明をもとに、ウイルス感染や自己免疫疾患の病態解明が進むことが期待される。



論文審査結果の要旨

B細胞はB細胞抗原受容体(B cell antigen receptor、BCR)を介して抗原を認識し、抗体やサイトカインの産生を介して宿主免疫に寄与する。またB細胞の活性は、BCRに加え、Toll-like receptors (TLRs)と呼ばれるパターン認識受容体や、ヘルパーT細胞に対する受容体であるCD40、IgG抗体のFc領域を認識しBCRのシグナルを抑制する受容体(Fc γ receptor, Fc γ R)を介して、厳密に制御されている。一方、炎症応答で機能する転写制御因子 I κ B- ζ は、B細胞において発現が誘導されるという報告がなされているものの、その発現機構や機能は未だ不明な点が多い。本研究では、B細胞における I κ B- ζ の発現誘導機構とその機能について解析した。

まず、B細胞において I κ B- ζ が、BCR刺激及びTLR刺激に伴い発現誘導されることを確認した。また、B細胞のFc γ Rの I κ B- ζ の発現への関与を検討した結果、Fc γ RはBCR刺激に伴う I κ B- ζ の発現をほぼ完全に抑制する一方、TLR刺激に伴う I κ B- ζ の発現は抑制しなかった。続いて、B細胞において I κ B- ζ の発現がどのような機構で制御されているか解析したところ、マクロファージのTLR刺激による誘導と同じく、BCR刺激に伴う I κ B- ζ の発現には転写因子 nuclear factor- κ Bによる転写の活性化と I κ B- ζ mRNAの3'-非翻訳領域内のシスエレメントに依存した転写後制御という二段階の制御を受けていることが明らかになった。さらに、Fc γ RはBCR刺激に伴うこの二段階の制御を共に抑制することにより、I κ B- ζ の発現を厳密に制御していることが判明した。

次に、BCRとTLRの同時刺激の際の I κ B- ζ の発現を検討した。その結果、核酸を認識するTLR9とBCRの共刺激に伴い、相乗的に I κ B- ζ の発現が誘導されることを見出した。興味深いことに、この相乗効果はTLR2とBCRの共刺激では観察されず、さらに、BCRのシグナルを抑制するFc γ RはTLR9とBCRの相乗効果を抑制しないことが明らかになった。

さらに、野生型および I κ B- ζ 欠損マウスからB細胞を精製し、BCRもしくはTLR9刺激後のRNAを用いてDNAマイクロアレイ解析を行った。その結果、I κ B- ζ は、抗炎症性サイトカイン IL-10や抑制性の共刺激分子 cytotoxic T-lymphocyte antigen (CTLA)-4をはじめ、BCRやTLRで誘導される様々な遺伝子の発現誘導に必須の役割を担っていることが明らかとなった。

以上の結果は、B細胞における I κ B- ζ の発現は、BCR、TLR、FcRの三種類の受容体による転写制御、転写後制御を介して厳密に制御されていること、I κ B- ζ の発現がB細胞機能に必須の役割を果たすことを示している。

本論文は、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、埴原文人提出の論文は、博士(生命科学)の博士論文として合格と認める。